

POKOK-POKOK DALAM ANALISA MIKROBIOLOGI PANGAN*) Sebuah Tinjauan

Milono Poesponegoro

Puslitbang Kimia Terapan - LIPI
Jl. Cisitua-Sangkuriang, Bandung 40135

INTISARI

Mikroorganisme di dalam pangan tidak saja dapat menurunkan kualitas dan lama penyimpanan pangan, tetapi juga dapat menyebabkan timbulnya keracunan makanan. Oleh karena itu analisa mikrobiologi sangat penting, terutama untuk menentukan keamanan pangan bagi kesehatan, penjagaan kualitas serta untuk maksud standarisasi produk pangan.

Adanya pencemaran bahan pangan oleh mikroorganisme memerlukan analisa mikrobiologi yang baku agar diperoleh hasil analisa yang akurat. Hal ini disebabkan karena disamping sifat pangan yang kompleks, banyak faktor lain yang berpengaruh pada hasil analisa mikrobiologi, diantaranya adalah umur pangan, pengambilan dan perlakuan contoh, serta metoda analisa yang digunakan. Dalam rangka pemilihan metoda analisa mikrobiologi pangan, tidak hanya sifat fisika dan kimia bahan pangan yang perlu diperhatikan, tetapi juga bentuk prosesingnya yang diperoleh sebelumnya, tipe organisme patogen/perusakanya yang utama, serta jumlah mikroorganisme yang diperkirakan ada perlu dipertimbangkan.

Dalam makalah ini disajikan tinjauan tentang pokok-pokok analisa mikrobiologi pangan, untuk menjelaskan berbagai aspek mikrobiologi, latar belakang dan prinsip yang mendasari pekerjaan analisa mikrobiologi pangan serta problematik yang terkait.

ABSTRACT

Microorganisms in foods not only can deteriorate the quality and shelf life of foods, but also capable of producing food poisoning. Therefore, microbiological analysis of foods is essential, particularly to establish safety, to secure adequate microbiological quality and for standardization of food products.

The existence of microbial pollution in foods needs standard microbiological analysis of foods to obtain accurate results of analysis. This is due to the fact that beside the complex nature of foods, the number of factors affecting the results of analysis are innumerable such as food age, sampling methods and treatment of the samples, and the methods of analysis used. In framing methods for the microbiological analysis of foods consideration must be given not only to the physical and chemical properties of the food, but also to the form of processing they have received, the types of pathogens or spoilage organisms likely to be of most importance and the number likely to be present.

This paper presents a review on the fundamentals of microbiological analysis of foods to clarify the various microbiological aspects, background and the principles outlay the works of microbiological analysis of foods and their problems.

PENDAHULUAN

Berkenaan dengan sifatnya yang mudah dicerna, bahan pangan mengandung senyawa-senyawa kimia yang mudah mengalami biodegradasi oleh mikroorganisme sehingga menurunkan kualitas dan keamanannya untuk dikonsumsi. Pencemaran bahan pangan oleh mikroorganisme tidak saja dapat menyebabkan bahan pangan menjadi rusak, tetapi juga menurunkan daya simpan dan membahayakan kesehatan manusia. Oleh karena itu, bahan pangan hendaknya bebas dari mikroorganisme patogen dan racun yang ditimbulkannya agar aman untuk dikonsumsi. Demikian pula, bahan pangan hendaknya sesedikit mungkin mengandung mikroorganisme yang tidak dikehendaki agar tidak menjadi cepat rusak dan turun kualitasnya.

Adanya kebutuhan konsumen untuk memperoleh pangan yang aman dan bebas dari gangguan bahaya kesehatan, telah mendorong timbulnya tuntutan bagi penerapan standar mikrobiologi, batasan atau spesifikasi pangan pada tingkat internasional (Edward, 1978). Tujuan utama standar pangan adalah, adanya: (1) jaminan proteksi kesehatan publik terhadap bahaya mikroorganisme patogen; (2) jaminan bahwa pangan secara keseluruhan belum pernah tercemar; dan (3) jaminan bahwa bahan pangan memiliki harapan waktu simpan yang lama.

Dari segi industri penghasil pangan, standar pangan berarti: menghasilkan produk pangan untuk dijual kepada konsumen yang tidak saja aman untuk dikonsumsi, tetapi juga mempunyai kualitas yang baik, utuh, tidak rusak oleh prosesing maupun oleh mikroorganisme, serta memiliki daya simpan yang baik. Shewan (1976) menegaskan bahwa pangan perlu diproduksi secara "higienis" dengan menerapkan konsep *Good Manufacturing Practice* (GMP) dan *Good Commercial Practice* (GCP).

*) Telah dibawakan pada Food Analysis Workshop, Bandung 13-22 Oktober 1997.

Di dalam istilah mikrobiologi GMP atau GCP dinyatakan oleh *Standard Plate Count* (SPC), sehingga secara teoretis suatu pangan yang diproduksi dengan konsep GMP atau GCP cenderung memberikan nilai SPC yang rendah dibandingkan dengan produk pangan yang dihasilkan pada kondisi yang tidak higienis.

Lebih jauh lagi, kini telah berkembang konsep pengendalian mutu pangan dari aspek mikrobiologi yang dikenal sebagai *Hazard Analysis and Critical Control Point* (HACCP), yang tidak saja telah diterapkan di industri manufacturing pangan untuk tujuan pengendalian processing pangan tetapi juga di industri pelayanan pangan untuk pengendalian operasi dalam pelayanan pangan kepada konsumen (Munce, 1984). Pelaksanaan HACCP bertujuan untuk menghilangkan atau memperkecil terjadinya kontaminasi selama proses produksi pangan, mencegah terjadinya rekontaminasi serta mencegah pertumbuhan atau peningkatan populasi mikroorganisme di dalam bahan pangan selama distribusi dan penyimpanannya (Bauman, 1974).

Hal-hal tersebut diatas menunjukkan adanya kebutuhan akan analisa mikrobiologi terhadap bahan pangan untuk menentukan keamanan dan kualitasnya, terutama berkenaan dengan peran bahan pangan dalam penyebaran penyakit. Analisa mikrobiologi menjadi semakin penting dengan meningkatnya perdagangan internasional akan bahan pangan dan dengan bahaya yang terkait dari introduksi teknik-teknik baru dalam produksi massal, distribusi yang luas dan cepat, serta diperdagangkannya bahan pangan dari daerah-daerah sumber penyakit interik (Thatcher and Clark, 1968).

Pada umumnya orang menganalisa bahan pangan secara mikrobiologi terutama untuk tujuan: (a) menentukan keamanannya; (b) mengukuhkan penjagaan kualitasnya; dan (c) untuk maksud standarisasi. Adapun sasaran analisa mikrobiologi pangan, adalah: (1) Mendeteksi dan menganalisa tingkat pencemaran tinja pada pangan; (2) Menganalisa tingkat perlakuan yang diperlukan agar pangan aman untuk dikonsumsi; (3) Menjamin efisiensi proses pada berbagai tahapan dalam pengolahan pangan; (4) Melokalisasi sebab-sebab timbulnya kerusakan kualitas pangan; (5) Menetapkan kemurnian mikrobiologis pangan setelah diproduksi, dan menunjukkan tetap terjaganya kemurnian pangan tersebut di dalam sistem distribusi dan penyampaiannya kepada konsumen.

Tulisan ini dimaksudkan sebagai introduksi tentang pokok-pokok analisa mikrobiologi pangan yang menjelaskan berbagai aspek mikrobiologi, latar belakang dan prinsip yang mendasari pekerjaan analisa mikrobiologi pangan serta problematik yang terkait.

MAKANAN DAN KEAMANANNYA BAGI KESEHATAN

Dari seluruh wabah penyakit yang disebabkan oleh pangan, seperti ditunjukkan dalam Tabel-1, sebagian

besar diakibatkan oleh ulah bakteri. Lebih dari 50% disebabkan oleh *Staphylococcus*, *Salmonella* dan *Clostridium welchii*, dengan kontribusi untuk masing-masing sebesar 25,3%, 13,2% dan 17% (Pelczar and Reid, 1974). Demikian pula Miskimin et.al. (1976) dan Munce (1981) menyatakan hal yang sama yaitu bahwa keracunan pangan terutama disebabkan oleh *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella*. Lebih lanjut Miskimin et.al. (1976) menyebutkan bahwa penyebaran organisme patogen pada umumnya berbeda tingkatannya untuk pangan yang siap makan dengan yang masih mentah. Tabel-2 menunjukkan bahwa pangan yang masih mentah lebih banyak mengandung mikroorganisme patogen daripada pangan yang siap makan.

Tabel 1. Wabah penyakit yang disebabkan oleh pangan

Penyebab	Persentase (%)
Bahan kimia	7,3
<i>Staphylococcus</i>	25,3
<i>Clostridium perfringens</i>	17,5
<i>Salmonella</i>	13,2
<i>Shigella</i>	2,7
<i>Clostridium botulinum</i>	2,7
Virus	2,4
Parasit	3,3
Jenis lainnya, termasuk : <i>Bacillus cereus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,0
Jenis tak diketahui	21,6

Pustaka: Pelczar and Reid (1974)

Tabel 2. Penyebaran organisme patogen dalam pangan mentah dan yang siap dimakan

Jumlah contoh pangan	Mentah	Siap dimakan
Total yang diuji	132	593
<i>Clostridium perfringens</i>	27	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	66	21
<i>Salmonella</i>	8	8
Total yang mengandung organisme patogen	76	40
Pangan yang mengandung organisme patogen (%)	58	7

Pustaka: Miskimin, et.al. (1976)

Bagaimanakah sebenarnya peranan pangan ini sebagai penyebar penyakit? Pangan tertentu dapat berfungsi sebagai medium pertumbuhan bagi organisme patogen. Dalam pangan ini organisme patogen tumbuh dan berkembang biak. Jika tertelan bersama pangan organisme patogen dapat menyebabkan penyakit infeksi. Dalam keadaan lain, organisme patogen dapat berbiak dan melepaskan racun di dalam saluran pencernaan manusia. Beberapa jenis patogen tertentu dapat menghasilkan racun dalam pangan sebelum dimakan manusia. Dapat pula

terjadi, pangan hanya berfungsi sebagai *carrier* bagi jasad renik patogen tertentu.

Menurut Hobbs (1977) terdapat beberapa tipe bakteri yang diketahui menyebabkan keracunan pangan:

- Jenis bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi apabila tertelan bersama pangan, misalnya: *Salmonella*, *Escherichia coli* dan *Vibrio*;
- Jenis bakteri yang hidup dan melepaskan racun di dalam intestin, misalnya: *Clostridium welchii*;
- Jenis bakteri yang tumbuh dan berkembang biak di dalam bahan pangan dan menghasilkan racun, sebelum pangan tersebut dimakan, misalnya: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* dan *Bacillus cereus*;
- Jenis organisme patogen yang menggunakan bahan pangan sebagai *carrier*, misalnya: *Shigella*, *Brucella* dan golongan *virus*.

Davis (1969) dan Lee (1978) menyatakan, bahwa dosis infeksi minimum untuk *Salmonella* pada umumnya cukup tinggi ($10^5 - 10^6$ sel), kecuali typhus sangat rendah (3 - 5 sel saja). Keracunan pangan oleh *Staphylococcus* dapat terjadi jika pangan itu mengandung paling sedikit 10^6 CPS per-gram (CPS= jenis *Staphylococcus* yang coagulase-positif).

Davis (1969) menyarankan bahwa hendaknya pangan itu tidak mengandung *Salmonella* dalam tiap 100g pangan, dan tidak mengandung lebih dari $1-10^3$ CPS per-gram tergantung jenis pangannya. Untuk jenis pangan yang langsung dimakan tidak lebih dari 10^3 CPS, tetapi untuk jenis pangan lainnya yang akan dipakai sebagai bahan pangan lainnya hendaknya tidak lebih dari 10 CPS karena jumlah yang sedikit itu akan berkembang biak, berlipat ganda hingga mencapai jumlah yang berbahaya ketika pangan itu siap dimakan.

Hampir semua mikroorganisme penyebab keracunan itu berasal dari bahan asal hewan, baik hidup atau mati. Pangan yang berasal dari tumbuhan jauh lebih aman, meskipun ada beberapa pengecualian termasuk kasus botulinum yang terjadi pada sayur-sayuran yang dibotolkan di rumah-rumah tangga.

MAKANAN DAN DAYA SIMPANNYA

Corlet Jr (1974) menyatakan, bahwa pada umumnya populasi mikroorganisme di dalam pangan telah mencapai jutaan per-gram sebelum kerusakan dapat terdeteksi secara organoleptik. Davis (1969) juga menyebutkan bahwa jika pangan mulai membusuk, *Standard Plate Count* biasanya telah mencapai $10^7 - 10^8$ per-gram. Tingkat populasi bakteri pada pangan yang mulai terdeteksi rusak dengan terbentuknya lendir dan bau yang tidak dikehendaki berbeda untuk jenis bahan pangan yang berbeda. Demikian pula, kerusakan secara mikrobiologis disebabkan oleh mikroorganisme yang khusus untuk masing-masing jenis pangan yang berbeda. Pada Tabel-3 diperlihatkan adanya analogi diantara faktor-faktor yang mempengaruhi

timbulnya penyakit dan faktor-faktor yang mempengaruhi timbulnya kerusakan pangan secara mikrobiologis.

Tabel-3 Analogi antara penyakit dan kerusakan pangan secara mikrobiologi

Penyakit pada manusia / hewan	Kerusakan pangan
Patogenisitas	Keganasan strain
Spesies hewannya	Tipe bahan pangan
Umur hewan	Umur pangan
Jumlah mikroorganisme yang menginfeksi	Jumlah organisme yang mengkontaminasi
Adanya trauma	Kerusakan wadah
Kesehatan umum, dan resistensi hewan	Kualitas komoditi, misalnya: pH, kadar air, dll.
Faktor-faktor lingkungan: kehangatan, kelelahan, keadaan nutrisinya, dsb.	Suhu, kelembaban, dsb.
Faktor antagonis biologis, misalnya leukosit, antibodi	Organisme penghambat
Pemberian obat-obatan	Antibiotika, preservatives
Carrier, infeksi silang, dsb.	Kontaminasi oleh bahan pangan lain

Pustaka: Davis (1969)

PENGENDALIAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DALAM INDUSTRI PANGAN

Sejak Louis Pasteur memperkenalkan metoda pasturisasi untuk mengawetkan anggur, pengendalian mikroorganisme dalam industri pangan memperoleh perhatian yang lebih seksama. Pada Tabel-4 diberikan contoh cara-cara yang umumnya ditempuh di industri pangan untuk mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme.

Tabel-4 Cara pengendalian pertumbuhan mikroorganisme dalam industri pangan

Perlakuan	Pengaruhnya
Pendinginan pada 0°C	Memperlambat pertumbuhan semua jenis mikroorganisme, dan tidak ada pertumbuhan mikroorganisme patogen
Pendinginan pada 3°C	Tak ada pertumbuhan mikroorganisme untuk beberapa hari
Pembekuan pada -20°C hingga -10°C	Tak ada pertumbuhan mikroorganisme (dengan beberapa pengecualian)
Flashing untuk pangan cair dengan suhu 67°C selama 18 detik, atau suhu 71°C selama 3 detik	Agak kurang pengaruhnya jika dibandingkan dengan cara pasturisasi
Pasturisasi pada 71°C selama 18 detik	Membunuh semua jenis mikroorganisme kecuali yang thermodiuric dan spora
Spray drying	Agak kurang pengaruhnya jika dibandingkan dengan cara pasturisasi
Roller drying	Agak lebih pengaruhnya jika dibandingkan dengan cara pasturisasi
Iradiasi	Hasilnya bervariasi
Perlakuan dengan uap, misalnya untuk cream, dll.	Membunuh semua sel vegetatif
Sterilisasi pada 110°C selama 20 menit	Membunuh semua mikroorganisme kecuali spora yang resisten
Sterilisasi pada 121°C selama 20 menit, atau pada 140°C selama 2 detik	Membunuh semua mikroorganisme
Pengentalan dan penambahan gula	Hampir bersifat bakteriostatik sempurna
Pengeringan, jika tepat	Hampir bersifat bakteriostatik sempurna

Pustaka: Davis (1969)

BEBERAPA MASALAH DALAM ANALISA MIKROBIOLOGI PANGAN

Organisme patogen dan organisme perusak sedikit sekali memperlihatkan kesamaan dan hubungannya satu sama lain. Oleh karena itu haruslah dilakukan analisa yang khusus untuk masing-masing tujuan, dan pengujian harus dirancang menurut jenis pangan yang bersangkutan.

Jumlah faktor yang mempengaruhi hasil analisa sangat banyak, dan kompleksnya sifat fisika dan kimia pangan menambah sumber kesalahan dalam analisa mikrobiologi. Tidak dapat diharapkan analisa mikrobiologi pangan mempunyai tingkat keakuratan yang tinggi dalam penentuan kuantitatif sebagaimana halnya dalam analisa kimia. Hal ini disebabkan karena banyaknya faktor yang dapat mempengaruhi hasil suatu analisa mikrobiologi pangan. Berikut ini diutarakan hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil analisa yang telah menjadi problema dalam analisa mikrobiologi pangan.

(a) Umur pangan

Di dalam analisa mikrobiologi pangan baik umur pangan maupun suhu penyimpanannya merupakan faktor-faktor yang harus dipertimbangkan dan dicatat. Populasi mikroorganisme dalam bahan pangan mungkin dapat menurun, meningkat, atau tetap statis dengan bertambahnya waktu (Yeterian *et.al.*, 1974). Davis (1969) menyatakan bahwa populasi mikroorganisme dapat meningkat dan mencapai tingkatan yang merusak pangan. Pada umumnya pangan yang "berbahaya" mengalami kerusakan secara cepat dan mikroflora yang berbahaya meningkat populasinya pada suhu 15 - 45°C. Oleh karena itu, meskipun umur pangan merupakan faktor di luar kendali kita, perlu dibakukan dan dicatat. Demikian pula penting untuk dicatat faktor-faktor lain, misalnya status dehidrasi, tipe pembungkusannya, kondisi penyimpanannya, dan sebagainya.

(b) Pengambilan contoh (*sampling*)

Distribusi mikroorganisme yang tidak merata di dalam bahan pangan juga menimbulkan masalah tertentu dalam pengambilan contoh: berapa banyak contoh yang harus diambil dari suatu lot, dan bagaimana caranya.

(c) Perlakuan contoh

Cara mempersiapkan contoh suatu bahan pangan untuk maksud analisa mikrobiologi merupakan hal yang sangat penting. Pelaksanaan maserasi, homogenisasi, pH, konsentrasi garam, serta tegangan permukaan dapat berpengaruh pada hasil pengujian.

(d) Metoda analisa

Meskipun dengan metoda yang sama dengan laboratorium yang berbeda, bahkan pada satu laboratorium tetapi di tangan teknisi yang berbeda ketrampilannya akan dapat

memberikan hasil analisa yang berbeda. Oleh karena itu, pembakuan dan pengendalian yang ketat perlu dilakukan terhadap beberapa hal, misalnya untuk tahapan pekerjaan berikut ini:

- Pengambilan contoh;
- Perlakuan yang segera terhadap contoh, misalnya pendinginan;
- Cara transportasi ke laboratorium;
- Perlakuan contoh di laboratorium, misalnya cara dalam maserasinya;
- Semua aspek metoda yang digunakan, misalnya: jumlah contoh yang dibutuhkan dalam pengujian, media selektif dan media pengkayaan (*enrichment media*), suhu inkubasi, dan lain-lainnya.

Dalam rangka pemilihan metoda analisa mikrobiologi pangan, tidak hanya jenis suatu bahan pangan yang perlu diperhatikan, tetapi juga bentuk prosesingnya yang diperoleh sebelumnya, tipe organisme perusakannya yang utama, dan jumlah mikroorganisme yang diperkirakan ada perlu dipertimbangkan.

METODA ANALISA MIKROBIOLOGI PANGAN

Analisa mikrobiologi yang dimaksudkan itu dapat berupa pengamatan mikroskopis, prosedur kultivasi, reaksi serologis, atau kombinasi ketiga jenis analisa tersebut.

(a) Pengamatan Mikroskopis

Pemeriksaan pangan secara mikroskopis, baik secara langsung ataupun dengan cara pewarnaan jarang digunakan. Tetapi teknik-teknik tertentu sering dapat menjadi uji yang berguna, misalnya teknik fluoresensi untuk deteksi *Pseudomonas* pada daging.

Pemeriksaan mikroskopis juga dapat memberikan informasi umum mengenai mikroorganisme yang mungkin terdapat di dalam bahan pangan yang diperiksa, misalnya tentang bentuk sel dan jenisnya, reaksi Gram-nya dan sebagainya.

(b) Prosedur kultivasi

Secara lengkap, suatu analisa mikrobiologi pangan dapat meliputi tahap-tahap pengkayaan (*enrichment*), pengesekan, isolasi koloni, uji kultivasi dan biokimia, uji serologi dan penentuan patogenisitas. Jika semua tahap-tahap itu harus dilaksanakan, misalnya di dalam pekerjaan-penelitian khusus, maka analisa mikrobiologi pangan akan menjadi sangat kompleks dan tidak lagi praktis.

Akan tetapi dengan teknik-teknik kultivasi tertentu, sering analisa dapat disederhanakan, dan hal inilah yang biasanya ditempuh dalam praktek, misalnya dengan penggunaan media selektif, uji-uji khusus dan sebagainya.

(c) Metoda pencacahan

Sering di dalam analisa mikrobiologi pangan diperlukan data kuantitatif disamping data kualitatif. Data semacam itu perlu, misalnya untuk menentukan batas-batas keamanan suatu pangan terhadap organisme patogen tertentu, atau untuk memperoleh gambaran umum daya-simpannya. Data tersebut pada umumnya diperoleh dengan cara pencacahan sehingga dapat diperoleh informasi berapa banyak kandungan mikroorganisme tertentu di dalam suatu contoh pangan yang diperiksa.

Pencacahan dapat dilakukan dengan cara mikroskopis, dengan metoda *Most Probable Number* (MPN) atau dengan cara *plating*.

(c.1) *Standard Plate Count* (SPC)

Penentuan ini sangat penting dalam analisa mikrobiologi pangan. Maksud penentuan ini adalah untuk mengetahui kandungan mikroorganisme hidup yang ada di dalam contoh pangan. Cara ini mempunyai kelemahan karena yang tercacah hanyalah sebagian saja dari populasi yang ada, yaitu hanya mikroorganisme yang mampu berkembang biak pada kondisi pengujian.

Disamping itu, perlu pula diingatkan bahwa banyak sekali faktor yang dapat mempengaruhi hasil penentuan SPC, diantaranya: kebersihan alat-gelas, air dan pengenceran, preparasi media, pengambilan contoh dan kultivasi, penghitungan koloni, kalkulasi hasil, ketrampilan dan ketelitian teknis.

Akan tetapi, dalam praktek SPC ini penting artinya dalam analisa mikrobiologi, karena beberapa hal (Shewan, 1976):

- Semakin tinggi harga SPC semakin besar pula kemungkinan terjadinya keracunan pangan;
- SPC merupakan refleksi sanitasi dan kondisi suhu-waktu selama proses produksi, transportasi dan penyimpanan suatu produk pangan;
- Semakin rendah nilai SPC sesuatu produk pangan, cenderung semakin lama makanan dapat tahan-simpan.

(c.2) *Uji Spesifik*

Davis (1969) menyatakan bahwa baik keracunan maupun kerusakan pangan disebabkan oleh organisme spesifik, dan oleh karena itu perlu juga dilakukan uji spesifik disamping *Standard Plate Count*.

Sebagaimana diuraikan terdahulu bahwa keracunan pangan terutama disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, dan *Salmonella*, maka perlu dilakukan penentuan ketiga jenis organisme tersebut baik secara kualitatif maupun kuantitatif untuk menjamin keamanan suatu produk pangan.

(c.3) *Uji organisme indikator*

Meskipun ada kebutuhan untuk mendeteksi adanya organisme patogen, tetapi tidaklah praktis untuk melakukan

analisa mikrobiologi pangan secara rutin akan adanya organisme patogen karena akan diperlukan waktu, dana dan tenaga yang besar untuk memperoleh data semacam itu.

Oleh karena itu dipakailah organisme indikator sebagai petunjuk bagi kemungkinan adanya organisme patogen. Diantara analisa organisme indikator yang penting adalah penentuan kandungan organisme *faecal coliform* dan kandungan *Escherichia coli*. Adanya *coliform* ataupun *E. coli* menunjukkan telah terjadinya kontaminasi bahan pangan oleh tinja, yang selama ini dianggap sebagai salah satu sumber penyebaran penyakit terutama "gastroenteritis" yang meracuni saluran pencernaan.

Dipakainya *faecal coli* sebagai organisme indikator, terutama didasarkan pada kenyataan bahwa *faecal coli* selalu terdapat di dalam *faeces*, dan di dalam air bakteri itu akan mati lebih lambat daripada jenis organisme patogen lainnya.

Tetapi pada masa kini ada kecenderungan mengganti *faecal coli* dengan *faecal streptococci* (*Streptococcus faecalis*) sebagai petunjuk terjadinya kontaminasi bahan pangan oleh tinja. Hal ini disebabkan alasan, bahwa organisme ini terdapat di dalam saluran pencernaan manusia (jadi spesifik manusia), serta lebih resisten terhadap pengaruh faktor-faktor lingkungan yang jelek, misalnya: pengeringan, pembekuan, proses pasturisasi, kadar garam yang tinggi, serta dengan adanya antibiotika.

Pada masa kini pengujian organisme indikator memperoleh arti yang lebih diperluas, yaitu adanya organisme indikator dalam pangan dianggap sebagai petunjuk kegagalan higienis dalam proses produksi, distribusi maupun penyimpanan pangan. Perluasan arti pengujian organisme indikator ini ditingkatkan lagi dalam industri pangan, dimana macam organisme indikator yang ditentukan tidak lagi terbatas pada *coliform*, *faecal coli*, *faecal streptococci*, tetapi macamnya lebih banyak lagi berdasarkan relevansinya masing-masing (Tabel-5).

Tabel-5 Contoh penggunaan organisme indikator dalam industri pangan

Organisme	Menunjukkan, adanya:	Dalam pangan, atau lainnya
Faecal coli, enterococci, <i>Clostridium perfringens</i>	Polusi tinja	Air, effluent pangan tertentu
Organisme nonthermodiuric	Kegagalan dalam pasteurisasi	Susu yang dipasturisasi, cream
Bakteria non-spora	Kebocoran kaleng	Makanan kaleng yang disterilkan
Spora	Kegagalan sterilisasi	Makanan kaleng yang disterilisasi
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kontaminasi dari manusia atau hewan	Pangan mentah, pangan yang diberi perlakuan panas tetapi kemudian terkontaminasi lagi
Presumptive coliform	Kontaminasi setelah prosesing	Pangan yang dipasturisasi

Pustaka: Davis (1969)

(c.4) Pengujian bantu

Meskipun diluar skop teknik mikrobiologi, tetapi beberapa pengujian fisika, kimia, dan biokimia tertentu dapat menunjang secara tidak langsung pada perkiraan kualitas suatu pangan dan akan sangat berguna dalam evaluasi hasil analisa mikrobiologi.

Banyak bahan pangan memiliki sifat-sifat intrinsik penghambat pertumbuhan mikroorganisme, baik yang diperoleh secara alami maupun arifisial, misalnya pH, keasaman, gula, garam, air dan bahan pengawet. Jika hal-hal tersebut masih dalam batas kewajaran, diharapkan pertumbuhan mikroorganisme dapat dihambat.

KEDAPAT-ULANGAN ANALISA MIKROBIOLOGI PANGAN

Ada perbedaan karakteristik dalam faktor-faktor teknis diantara analisa kimia dan mikrobiologi. Pada analisa kimia hasil yang berdekatan sangat besar kemungkinannya untuk dapat diperoleh baik pada duplikasi contoh, bahkan meskipun dengan metoda yang berbeda, atau dilakukan pada laboratorium yang berbeda. Umur suatu bahan pangan, misalnya, tidaklah begitu banyak berpengaruh pada hasil pengujian.

Di dalam analisa mikrobiologi pangan secara kuantitatif, kedapat-ulangannya sangat rendah, dan ini menuntut

adanya fleksibilitas dalam interpretasi hasil pengujian. Davis (1969) menyatakan, bahwa hanya perbedaan yang sampai 10x baru dianggap signifikan.

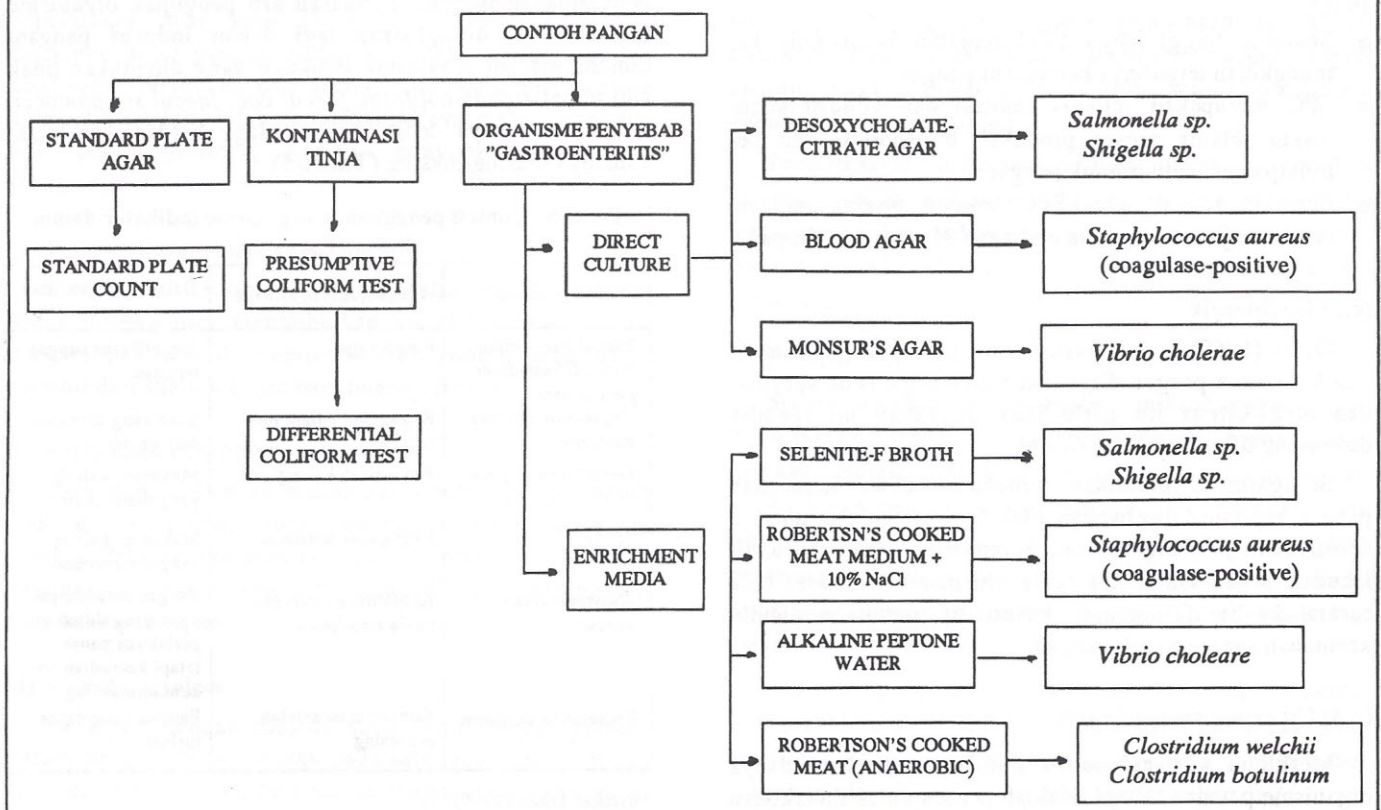
CONTOH PROSEDUR ANALISIS MIKROBIOLOGI PANGAN

Setelah dibicarakan latar belakang, prinsip, dan beberapa masalah yang erat kaitannya dengan analisa mikrobiologi, maka perlu pula diberikan contoh prosedur analisa mikrobiologi dalam bentuknya yang konkrit.

Pada Gambar-1 ditunjukkan skema contoh analisa mikrobiologi terhadap contoh pangan untuk menentukan sanitasinya. Sasaran analisa mikrobiologi tersebut, adalah:

- (1) Menentukan SPC untuk memperoleh informasi tentang kandungan bakteri yang hidup di dalam contoh pangan yang bersangkutan;
- (2) Menguji ada tidaknya kontaminasi contoh pangan tersebut oleh tinja, dengan menentukan adanya bakteri *coliform* berdasarkan *presumptive test* dan *differential coliform test*;
- (3) Menentukan adanya organisme spesifik penyebab penyakit *gastroenteritis*: *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* (coagulase-positive), *Clostridium welchii*, dan *Clostridium botulinum*.

Gambar-1 Contoh protokol analisa mikrobiologi pangan.
Dimodifikasi dari Yeo Beng Poh (1972).



Petunjuk teknis tentang analisa mikrobiologi pangan dapat diperoleh pada beberapa pustaka, diantaranya adalah: Thatcher and Clark (1968), Department of Health and Social Security, UK. (1977), Hersom and Hulland (1969), Fleet and Mann (1986), dan King *et.al.* (1981).

King *et.al.* (1981) telah memberikan cara deteksi kapang di dalam pangan. Menurut King *et.al.* (1981), kapang kurang memperoleh perhatian dalam analisa mikrobiologi pangan meskipun data menunjukkan bahwa pangan dapat terkontaminasi dan ditumbuhi kapang yang beberapa jenis diantaranya dapat menghasilkan racun. Jenis kapang yang umum merusak pangan diantaranya adalah: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum* dan *Rhizopus*.

Pada Tabel-6 ditunjukkan contoh analisa mikrobiologi lainnya untuk maksud menentukan "safety" dan "keeping quality" suatu contoh produk pangan. Sedangkan pada Tabel-7 diberikan contoh bagaimana pangan itu dievaluasi setelah diperoleh hasil analisa mikrobiologinya.

Tabel-6 Berbagai contoh analisa mikrobiologi yang praktis untuk pangan

Analisa yang disarankan untuk "safety"
Coagulase-positive staphylococci
<i>Salmonella</i>
<i>Clostridium welchii</i>
Analisa organisme indikator, untuk jenis pangan dan kondisi tertentu
<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus faecalis</i> , atau enterococci
Analisa untuk "keeping quality", hygiene dalam pabrik dan suhu penyimpanannya
Total count
Presumptive coliform
Reduksi pewarna (untuk pangan tertentu)
Analisa untuk maksud mengontrol perusakan
Count pada selective media, tergantung pada jenis pangannya (misalnya untuk khamir, kapang atau pseudomonas)

Pustaka: Davis (1969)

Tabel-7 Klasifikasi pangan untuk kualitas berdasarkan hasil analisa mikrobiologi yang diperoleh

Aman untuk dimakan dan tahan untuk disimpan:
Jika analisa untuk organisme patogen, organisme indikator, total count FPO diperoleh hasil yang memuaskan (FPO= food poisoning organisms)
Tidak berbahaya untuk dimakan, tetapi mungkin tidak kuat untuk disimpan:
Mikroorganisme patogen tidak terdeteksi, tetapi total count tinggi dan FPO banyak
Perlu dicurigai pada pengujian:
Organisme patogen, dan/atau organisme indikator ada dalam jumlah yang sedikit (10 faecal coli atau 100 CPS per-gram).
Mungkin berbahaya pada pengujian:
Organisme patogen dan/atau organisme indikator ada dalam jumlah yang lumayan (100 faecal coli atau 1000 CPS per-gram)
Jelas sangat berbahaya:
Organisme patogen terdeteksi dalam jumlah yang dapat menyebabkan penyakit.

Pustaka: Davis (1969)

DAFTAR PUSTAKA

- Bauman, H.E. The HACCP Concept and microbiological hazard categories. *Food technol.* 28(9), pp30-34, (1974).
- Christian, J.H.B. National and international microbiological standards for foods. *Food Technol.Austral.* 28(11), pp417 - 418, (1976).
- Corlet Jr, D.A. Setting microbiological limits in the food industry. *Food Technol.* 28(10), pp34 - 40, (1974).
- Davis, J.G. Microbiological standards for foods. Part I. & Part II. *Lab. Pract.* 18(7), pp749 - 764, (1969); *Lab. Pract.* 18(8), pp839 - 854, (1969)
- Department of Health and Social Security. *The Bacteriological Examination of Water Supplies, U.K.* London, Her Majesty's Stationary Office. 4th Ed., 1977.
- Edwards, R.A. Consumer needs and food standards. *Food Technol. Austral.* 29(6), pp213 - 216, (1977).
- Fleet, G.H. and F. Mann. Microbiology of natural mineral water: An overview with data on Australian waters. *Food Technol. Austral.* 38(3), pp106 - 110, (1986).
- Hersom, A.C. and E.D. Hulland. *Canned Foods. An Introduction To Their Microbiology.* London, J. & A. Churchill Ltd, 6th Ed., (1969).
- King, A.D., A.D. Hocking and J.I. Pitt. The mycroflora of some Australian foods., *Food Technol. Austral.* 33(2), pp55-60, (1981).
- Miskimin, D.K. , K.A. Berkowitz, M. Solberg, W.E. Riha Jr., W.C. Franke, R.L. Buchanan and V.O'Leary. Relationships between indicator organisms and specific pathogens in potential hazardous foods. *J. Fd. Sci.* 41, pp1001 - 1006, (1976).
- Hobbs, B.C. Food-born disease. *Food Technol. Austral.* 29(2) , pp57 - 61, (1977).
- Munce, R.A. Hazard Analysis Critical Control Points and the food service industry. *Food technol. Austral.* 36(6), pp214 - 217, and p222, (1984).
- Pelczar, M.J. and R.D. Reid. *Microbiology.* New York, McGraw-Hill Book Company, Inc. 1974.
- Shewan, J.M. Microbial standards for foods. *Food Technol. Austral.*, 28(12) , pp493 - 495, (1976).
- Thatcher, F.S. and D.S. Clark. *Microorganisms in Foods: Their Significance and Methods of Enumeration.*, Toronto, University of Toronto Press, 1968.
- Yeo Beng Poh. Investors decision-making process in converting a laboratory discovery into a commercial viable product. W.R.(Ed.). *Waste Recovery By Micro-organisms.* The Ministry of Education Malaysia, Kuala Lumpur, pp215 - 220, 1972.
- Yeterian, M. L. Chugg, W. Smith and C. Coles. Are microbiological quality standards workable? *Food Technol.* 28(10), pp23 - 32, (1974).